

P ۴۱۳ مقایسه پرایمر های B4/B5 و F4/R2 در ردیابی DNA بروسلا در سرم با روش PCR

هادی پیری دوگاهه^۱، محسن ارزنلو^۱، سعید حسینی اصل^۱

۱- دانشگاه علوم پزشکی اردبیل، دانشکده پزشکی، گروه میکروب شناسی

مقدمه: بروسلوز یکی از شایعترین بیماری های مشترک بین انسان و دام بوده و در تمام مناطق ایران آندمیک است. ابداع تکنیکهای جدید تشخیصی که از یک طرف منجر به ردیابی و شناسایی سریع بروسلا می شود و از طرف دیگر خطر عفونت با این باکتری را در آزمایشگاه به حداقل می رساند از اهمیت بالایی برخوردار است، هدف این مطالعه، ارزیابی دو متد متفاوت PCR برای ردیابی DNA گونه های بروسلا در نمونه های سرم انسان بود.

روش ها: رقت های مختلفی از DNA خالص آماده شد. دو جفت پرایمر مورد استفاده نواحی مختلفی از ژن های بروسلا آپورتوس را تکثیر می کنند. تمام واکنش های PCR در حجم کلی ۲۵ میکرو لیتر که حاوی غلظتهای متفاوتی از DNA بروسلا و همچنین کنترل مثبت و منفی بودند، انجام شد. کنترل منفی حاوی آب مقطر به جای DNA الگو بود و به عنوان کنترل مثبت از DNA باکتری بروسلا استفاده شد.

یافته ها: دو متد PCR حساسیت بسیار خوبی برای ردیابی DNA گونه های بروسلا در نمونه های سرم داشتند. دو جفت پرایمر مورد استفاده تفاوتی در حساسیت برای ردیابی DNA خالص بروسلا نشان ندادند، آنها توانستند DNA خالص بروسلا را در محدوده ای بین ۴/۲۵ نانو گرم تا ۴/۲۵۰ فمتو گرم ردیابی نمایند.

نتیجه گیری: در مقایسه بین دو جفت پرایمر، از آنجائیکه پرایمر B4/B5 موجب تکثیر قطعه کوتاه تری می شود و ردیابی و کارکردن با قطعه کوتاه تر راحت است، این پرایمر می تواند به ابزار مفیدی برای تشخیص بروسلوز انسان مبدل گردد.

کلمات کلیدی: پرایمر های B4/B5، F4/R2، ردیابی DNA بروسلا، PCR

Comparison of primers B4/B5 and F4/R2 for Detection of *Brucella* DNA in Serum by PCR

Peeridogaheh H¹, Arzanlou T¹, Hosaini asi S¹

1- Dept of Microbiology, School of Medicine, Ardebil University of Medical Sciences

Introduction: *Brucellosis* is a worldwide zoonosis and is endemic in all parts of the Iran. The development of new diagnostic techniques that facilitate rapid detection and identification of brucellae and minimize the risk of laboratory infection is of great practical importance. The aim of this study was to evaluate two different PCR methods for the detection of *Brucella* spp. DNA in human serum samples.

Methods: Serial dilutions of purified DNA were made. The two pairs of primers have chosen amplified regions of two different *Brucella* genes. All amplifications were performed in a total volume of 25 µl, containing serial dilutions of *Brucella* DNA and positive and negative controls. The negative control contained sterile water instead of DNA template. As positive controls, DNA isolated from *Brucella* spp was used.

Results: The two PCR assays had excellent sensitivity for detection of *Brucella* spp DNA in serum samples. The two primers assayed did not show a difference in sensitivity for detecting purified *Brucella* DNA. They detecting purified DNA of *Brucella* in ranging between 4/25 ng to 4/25 fg.

Conclusion: The sensitivity of two primers set did not show a difference in detecting of *Brucella* DNA in serum sample; however, as the primers B4/B5 amplified a shorter fragment in comparison to primers F4/R2, we think that they could provide a useful tool for diagnosis of human brucellosis.

Key words: primers B4/B5 and F4/R2, *Brucella*, DNA, PCR



دانشگاه علوم پزشکی ایلام

